# EFEKTIVITAS EKSTRAK TEPUNG TESTIS SAPI DALAM ALIH KELAMIN IKAN NILA, *Oreochromis niloticus* L. MELALUI TEKNIK PERENDAMAN

(The Effectiveness of BTME (Bull Testes Meal Extract) in Sex-Reversal of Tilapia through Immersion Technique)

Andri Iskandar<sup>1</sup>, M. Zairin Junior<sup>2</sup>, Harton Arfah<sup>2</sup>
<sup>1</sup>Diploma, Institut Pertanian Bogor. aiskandarc50@gmail.com
<sup>2</sup>Departemen Budidaya Perairan, Institut Pertanian Bogor.

Diterima/disetujui : 22 Maret 2014/ 9 April 2014

#### **ABSTRACT**

Synthetic steroids are commonly used to sex-reverse tilapia to produce male tilapia commercially, but gradually feared a negative impact on food security and environmental sustainability. The use of new natural compound is a potential alternative to be explored, one of which is bull testes meal extract (BTME). This study aimed to evaluate the effectiveness of BTME immersion and optimal concentrations for sex-reverse tilapia to produce monosex male tilapia, and its influence on survival and growth of fish. The study consisted of 5 treatments with 3 replications: immersion treatment with BTME concentration of 1 ml l-1 (A), 3 ml  $l^{-1}(B)$ , 5 ml  $l^{-1}(C)$ , immersion treatment in 17 $\alpha$ -methyltestosterone of 500 µg  $l^{-1}$ (K+) and without hormone immersion treatment (K-). Hormone immersion was performed on tilapia larvae aged 4 and 7 days after hatching. The fish were then maintained for 60 days. The parameters observed were: the percentage of male tilapia and intersex tilapia, survival rates, and growth rate of fish. BTME immersion for sex-reverse the tilapia larvae have significant effect on masculinization of tilapia. The highest percentage of male fish was obtained on treatment C (85.56%) and was not significantly different from K (+) (81.11%). Immersion of tilapia in BTME or  $17\alpha$ -MT did not affect the survival and growth of tilapia fish.

Keywords: sex reversal, bull testes meal extract (BTME), tilapia

#### **PENDAHULUAN**

Seksual dimorfisme adalah fenomena perbedaan bentuk atau karakter antara individu jantan dan individu betina pada suatu spesies ikan. Ikan nila *Oreochromis niloticus* jantan tumbuh lebih cepat dibandingkan dengan betina, sehingga pemeliharaan nila jantan secara monosex lebih menguntungkan dibandingkan dengan pemeliharan secara campuran, selain karena pertumbuhannya lebih cepat dan masa pemeliharaan lebih singkat, juga dapat mencegah terjadinya pemijahan liar (Kurniasih 2004; Hanif *et al.* 2006). Benih ikan nila jantan dapat diproduksi secara komersial dengan teknik pengalihan kelamin (*sex reversal*), yang pada umumnya menggunakan hormon sintetik. Jenis androgen yang paling sering digunakan dalam aplikasi alih kelamin untuk maskulinisasi adalah hormon 17α-metiltestosteron (MT) yang diperkirakan efektif digunakan pada lebih dari 25 spesies yang telah diuji (Devlin dan Nagahama 2002).

Meskipun 17α-metiltestosteron bersifat stabil dan mudah penanganannya (Yamazaki 1983), peredaran hormon ini sangat terbatas, harganya yang mahal dan sulit didapat di pasaran, selain itu untuk tujuan-tujuan yang sifatnya komersil, hormon tersebut tidak dijual secara bebas dan dibatasi penggunaannya. Wiryowidagdo (2005) menyebutkan bahwa senyawa MT mempunyai beberapa kelemahan yaitu sulit terurai di dalam tubuh, bersifat karsinogenik, mencemari lingkungan dan seringkali menyebabkan efek samping yang tidak dikehendaki. Selain itu, telah ada bukti yang menyebutkan bahwa penggunaan hormon sintetik dapat mengakibatkan hasil yang paradoxial menjadi betina, terutama bila pemakaian dosis yang berlebihan atau waktu pemberian yang terlalu lama (Papoulias *et al.* 2000).

Pemanfaatan hormon yang diperoleh dari bahan alami sebagai pengganti hormon sintetik diharapkan akan memberikan dampak positif dalam pengembangan budidaya monosex ikan nila. Senyawa bahan alami memiliki kelebihan mudah terurai dalam tubuh dan efek samping yang ditimbulkan sedikit (Wiryowidagdo 2005). Selain bertujuan untuk menekan biaya operasional, pemanfaatan senyawa dari bahan alami diharapkan dapat dengan mudah diaplikasikan pada tingkat petani ikan agar lebih efektif dan efisien. Sumber hormon testosteron yang berasal dari ekstrak tepung testis sapi (ETTS) merupakan salah satu alternatif solusi sebagai upaya pengganti hormon sintetik. Murni (2009) menyebutkan bahwa testis sapi yang selama ini menjadi limbah, ternyata kaya testosteron. Berdasarkan uji radio immuno assay (RIA) dengan menggunakan Yodium-125, ekstrak jaringan testis sapi mengandung kadar testosteron 30 % lebih tinggi dibandingkan dengan testosteron yang dihasilkan dari testis mencit, domba dan kambing. Menurut Hunter dan Donaldson (1983) pemberian dosis hormon yang terlalu tinggi atau rendah dapat menimbulkan sterilisasi dan abnormalitas dalam perkembangan gonad, meningkatnya kematian (mortalitas), adanya fenomena paradoksial serta tekanan terhadap pertumbuhan (Pandian dan Sheela 1995). Oleh karena itu, pengaruh ETTS dan konsentrasi optimal penggunaan ETTS dalam proses maskulinisasi ikan nila dengan metode perendaman larva untuk menghasilkan ikan nila monosex jantan perlu dikaji. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektifitas ETTS dan konsentrasi optimal penggunaan ETTS dengan metode perendaman larva dalam alih kelamin ikan nila dalam menghasilkan ikan nila monosex jantan, serta pengaruhnya terhadap tingkat kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan.

#### **METODE**

#### Pembuatan ETTS dan Analisa Kadar Testosteron.

Testis sapi yang digunakan sebanyak 5 buah dengan bobot berkisar antara 200-450 gram. Testis sapi berasal dari sapi lokal jenis bull (jantan normal), berumur 5-7 tahun, dengan bobot 4-7 kuintal dan sudah masuk kategori sapi dewasa. Tepung testis sapi dibuat dengan menggunakan metode *fresh drying*/kering segar (Muslim 2010). Tepung testis sapi selanjutnya direndam dalam larutan ether selama 48 jam kemudian hasil rendaman diuapkan. Setelah menguap, endapan dilarutkan dalam *phospate buffer saline* atau PBS (0.05 II-1; pH 7.4) sebanyak 0.5 ml, kemudian disentrifuse pada kecepatan 2500 rpm selama 15 menit pada suhu 4° C. Supernatan diambil dan dimasukkan ke dalam tabung serum untuk disimpan pada suhu -20° C sebelum digunakan. Kadar testosteron dalam ETTS dianalisa dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatograms*) pada λ 235 nm (Adamu et all 2006).

# Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan berupa larva ikan nila berumur 4 hari setelah penetasan (berat 0.01-0.02 gramekor<sup>-1</sup>). Larva dipelihara dalam wadah akuarium berukuran 90 x 40 x 40 cm dengan kepadatan 1 ekor l<sup>-1</sup>. Akuarium diisi air sebanyak 100 l. Untuk menjaga agar kualitas air di dalam akuarium tetap stabil, akuarium dilengkapi dengan aerasi dan *heater* yang bertujuan untuk menjaga kisaran suhu pada 28-30° C. Larva diberi pakan berupa pelet (protein min 40 % dan lemak min 10 %; label pakan), secara *ad libitum* dengan frekuensi pemberian 3-4 kali sehari.

# Pegujian Efektivitas ETTS

Pengujian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan, yaitu:

Perlakuan A: perendaman ikan nila dalam larutan ETTS konsentrasi 1 ml L-1

Perlakuan B: perendaman ikan nila dalam larutan ETTS konsentrasi 3 ml L-1

Perlakuan C: perendaman ikan nila dalam larutan ETTS konsentrasi 5 ml L-1

Perlakuan K(+) : perendaman ikan nila dalam larutan  $17\alpha$ -MT konsentrasi 500  $\mu$ g l<sup>-1</sup> (kontrol positif)

Perlakuan K (-): perendaman ikan nila tanpa ekstrak hormon (kontrol negatif)

Perendaman dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada hari ke 4 dan hari ke 7 setelah penetasan, selama 8 jam untuk setiap perendaman. Pemeliharaan larva dilanjutkan sampai ikan mencapai umur 2 bulan. Parameter yang diamati meliputi: 1) persentase jenis kelamin ikan jantan dan interseks, 2) tingkat kelangsungan hidup, dan 3) laju pertumbuhan ikan.

Jenis kelamin ikan uji diketahui dengan melakukan pemeriksaan gonad ikan menggunakan metode pewarnaan acetokarmin. Ikan uji sebanyak 30 ekor (30% total populasi per akuarium) diambil gonadnya dan dicincang sampai halus di atas kaca objek. Selanjutnya sampel gonad diberi larutan acetokarmin sebanyak 2 tetes dan kemudian diamati di bawah mikroskop binokuler pada pembesaran 400 kali. Persentase jenis kelamin ikan nila jantan dan interseks dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Zairin 2002):

Persentase (%) ikan jantan = 
$$\frac{\sum ikan jantan (sampel)}{\sum total ikan sampel} x100\%$$
  
Persentase (%) ikan interseks =  $\frac{\sum ikan interseks (sampel)}{\sum total ikan sampel} x100\%$ 

# **Analisis Statistik**

Analisis data dilakukan dengan metode analisis ragam (analysis of variance/ANOVA) pada selang kepercayaan 95% ( $\alpha$ =0.05) Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan maka analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

## Kadar Testosteron dalam Ekstrak ETTS

Kandungan hormon testosteron di dalam ETTS yang digunakan pada penelitian ini sebesar 100 mcg ml<sup>-1</sup>. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian serupa yang menggunakan testis sapi yaitu 142.8-1 204 ng g<sup>-1</sup> (Murni dan Jenny 2001); 2 300-27 700

pg g<sup>-1</sup> (Iskandariah 1996); dan 18.8 mg I<sup>-1</sup> (Meyer *et al.* 2008). Tingginya kandungan hormon dalam ETTS ini diduga karena bahan dasar ekstrak berupa tepung testis sapi dibuat dengan menggunakan metode *fresh drying* (kering segar). Menurut Muslim (2010), metode *fresh drying* ini tidak merusak bahan kimia termasuk hormon yang terkandung dalam tepung testis sapi.

## Persentase Jenis Kelamin Ikan Nila Jantan dan Interseks

Secara umum perendaman larva ikan nila dalam ETTS pada setiap perlakuan menghasilkan persentase ikan nila jantan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan K (-) (Tabel 1). Hal ini membuktikan bahwa pemberian ETTS yang mengandung hormon testosteron melalui aplikasi perendaman, mampu mempengaruhi sistem hormonal dalam tubuh ikan nila, sehingga berpengaruh terhadap terbentuknya kelamin jantan ikan nila. Persentase rata-rata jenis kelamin ikan nila jantan pada perlakuan C sebesar 85.56% memberikan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan K (-) dan perlakuan A, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan K (+) dan perlakuan B. Persentase ikan nila jantan pada perlakuan C lebih tinggi dibandingkan penelitian sejenis yang menggunakan bahanbahan senyawa alami seperti pemanfaatan testis beri-beri (ram) dengan persentase jantan yang dihasilkan sebesar 57% (Haylor dan Pascual 1991) dalam Pelps dan Popma (2000), ekstrak teripang pasir sebesar 67.31% jantan (Triajie 2008) serta resin lebah sebesar 60 % jantan (Soelistyowati 2009).

Tabel 1 Persentase (%) jenis kelamin ikan nila jantan pada setiap perlakuan di akhir pemeliharaan

Ulangan -			Perlakuan		
	K (-)	K (+)	Α	В	С
	60.00	90.00	66.67	80.00	83.33
II	46.67	73.33	73.33	76.67	83.33
Ш	60.00	80.00	66.67	70.00	90.00
Rata-rata	55.56 a	81.11 <sup>bc</sup>	68.89 <sup>b</sup>	75.56 <sup>bc</sup>	85.56°
STDEV	7.70	8.39	3.85	5.09	3.85

Hormon testosteron bertujuan untuk menambah konsentrasi androgen sehingga akan menyebabkan ikan menjadi jantan secara fenotipe. Sumantadinata dan Carman (1995) menyatakan bahwa pemberian hormon bertujuan untuk mengganggu keseimbangan hormonal di dalam darah yang pada saat diferensiasi kelamin, akan menentukan individu tertentu berstatus jantan atau betina. Keberhasilan pengarahan jenis kelamin pada ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis ikan, metode pemberian, lama waktu perlakuan, jenis dan dosis atau konsentrasi hormon yang digunakan serta temperatur air (Hunter dan Donaldson 1983).

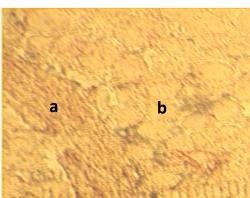
Diferensiasi kelamin meliputi seluruh aktifitas yang berhubungan dengan keberadaan gonad, mencakup perpindahan awal sel nutfah, munculnya bagian tepi gonad serta diferensiasi gonad menjadi testis atau ovari (Piferrer 2001). Pandian dan Sheela (1995) menyebutkan bahwa perlakuan hormonal sebelum gonad terdiferensiasi (periode labil) dapat mengarahkan individu menjadi jantan atau betina. Menurut Yuniarti et al. (2007) fase diferensiasi kelamin pada ikan nila terjadi pada saat larva berumur 6-7 hari sampai 27-28 hari setelah menetas. Perendaman hormon dalam penelitian ini dilakukan pada saat ikan nila masih berupa larva berumur 4 hari dan 7 hari, sebelum ikan memasuki fase diferensiasi kelamin. Sehingga diharapkan dapat meningkatkan persentase ikan nila jantan yang dihasilkan dikarenakan pada umur tersebut organ

kelamin belum terbentuk sempurna. Pada metode perendaman larva, hormon akan masuk ke dalam tubuh ikan melalui pertukaran pada insang, kulit dan gurat sisi serta melalui proses difusi (Zairin 2002). Hormon masuk ke peredaran darah, mengalir ke seluruh tubuh dan menuju ke gonad yaitu testis pada ikan jantan dan ovarium pada ikan betina.

Tabel 2 Persentase (%) ikan nila intesex pada setiap perlakuan diakhir pemeliharaan

Ulangan -			Perlakuan		
	K (-)	K (+)	Α	В	С
I	0.00	3.33	10.00	0.00	0.00
II	0.00	3.33	6.67	6.67	3.33
III	0.00	6.67	6.67	3.33	0.00
Rata-rata	0.00 <sup>a</sup>	4.44 <sup>bc</sup>	7.78°	3.33 <sup>b</sup>	1.11 <sup>ab</sup>
STDEV	0.00	1.92	1.92	3.33	1.92





Gambar 1 Jaringan gonad pada ikan nila jantan (A) dan ikan nila interseks (B). (a) bakal sel sperma dan (b) bakal sel telur

# Kelangsungan Hidup Ikan Nila

Penggunaan hormon atau bahan kimia sintetik dalam aplikasi alih kelamin pada ikan secara umum mempengaruhi tingkat kelangsungan hidup karena diduga menyebabkan tekanan fisiologi terhadap ikan yang diberi perlakuan. Benih ikan nila masih dalam fase larva sehingga kondisi fisiologinya masih lemah. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan alami dari ETTS yang tidak menyebabkan tekanan terhadap fisiologi benih ikan nila sehingga tingkat kelangsungan hidup benih ikan relatif tinggi. Perendaman larva ikan nila dengan menggunakan ETTS pada semua level konsentrasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan. Pada akhir penelitian, tingkat kelangsungan hidup benih ikan nila masih relatif tinggi berkisar antara 83.33 – 89.67% (Tabel 3).

Tabel 3 Persentase (%) kelangsungan hidup ikan nila di akhir pemeliharaan

Ulangan —			Perlakuan		
	K (-)	K (+)	Α	В	С
	87.00	81.00	87.00	82.00	86.00
II	92.00	83.00	93.00	92.00	88.00
III	87.00	86.00	89.00	84.00	91.00
Rata-rata	88.67ª	83.33 <sup>a</sup>	89.67 <sup>a</sup>	86.00 a	88.33 <sup>a</sup>
STDEV	2.89	2.52	3.06	5.29	2.52

#### Pertumbuhan Ikan Nila

Hormon androgen memiliki dua aktifitas fisiologi yaitu aktifitas androgenik dan aktifitas anabolik (Phelps dan Popma 2000). Terkait dengan hal tersebut, Dunham (2004) menyebutkan tentang satu penjelasan dari efek anabolik bahwa perubahan betina menjadi jantan menghasilkan peningkatan bobot tubuh ikan. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa pertumbuhan benih ikan nila yang diberi perlakuan perendaman ETTS tidak berbeda nyata baik antar perlakuan ETTS maupun perlakuan ETTS dengan kontrol (K(+) dan K(-)). Pertumbuhan ikan nila relatife sama, berkisar antara 11.23 – 13.24 g. Joe et al. (1995) dalam Guerrero III dan Guerrero (2004) melaporkan bahwa perlakuan MT 5-25 mg kg pakan-1 memiliki pengaruh yang lebih nyata terhadap pertumbuhan ikan dibandingkan dengan kontrol selama periode pengubahan kelamin. Namun, Cruz dan Mair (1994) dalam Mantau (2005) tidak menemukan pengaruh yang nyata perlakuan MT 40 mg kg pakan-1 terhadap pertumbuhan ikan selama masa pengubahan jenis kelamin.

Tabel 4 Pertumbuhan ikan nila di akhir pemeliharaan (g)

				(3)		
Ulangan —	Perlakuan					
	K (-)	K (+)	Α	В	С	
I	12.13	12.01	9.86	11,44	11.77	
II	12.15	12.07	12.98	13,15	13.69	
III	12.89	11.40	10.85	13,43	14.27	
Rata-rata	12.38 <sup>a</sup>	11.82 a	11.23 a	12.67 <sup>a</sup>	13.24 a	
STDEV	0.43	0.36	1.59	1.07	1.30	

#### **SIMPULAN**

Aplikasi alih kelamin melalui teknik perendaman dengan ETTS terhadap larva ikan nila memberikan pengaruh nyata terhadap maskulinisasi ikan nila. Persentase ikan jantan yang diperoleh pada perlakuan perendaman ikan nila dalam ETTS konsentrasi 3 ml l $^{-1}$  (B) sebesar 75.56% dan konsentrasi 5 ml l $^{-1}$  (C) sebesar 85.56% tidak berbeda nyata dengan perlakuan perendaman hormon sintetis 17 $\alpha$ -MT konsentrasi 500  $\mu g \ L^{-1}$  (K(+)) sebesar 81.11%. Dengan demikian, penggunaan ETTS pada konsentrasi 3 ml l $^{-1}$  dan 5 ml l $^{-1}$  dapat digunakan untuk menggantikan hormon 17 $\alpha$ -MT dalam menghasilkan ikan nila *monosex* jantan. Perendaman ikan nila dalam hormon ETTS pada konsentrasi sampai dengan 5 ml l $^{-1}$  maupun hormon 17 $\alpha$ -MT konsentrasi 500  $\mu g \ L^{-1}$  tidak mempengaruhi kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan nila selama 2 bulan pemeliharaan.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Adamu S, MY Fatihu, NM Useh, NGD Ibrahim, M Mamman, VO Sekoni and KAN Kesievo. 2006. Testicular Pathologic Changes in Relation to Serum Concentrations of Testosteron in Trypanosoma pivax Infected White Fulani Bull. Journal of Animal and Veterinary Advances 5, P: 1165-1171.
- Devlin RH, Nagahama Y. 2002. Sex Determination and Sex Differentiation in Fish: an Overview of Genetic, Physiological and Environmental Influences. *Aquaculture Research* 208: 191-364.
- Guerrero III RD Guerrero LA. 2004. Effect of Androstenedione and Methyltestosteron on *Oreochromis niloticus* Fry Treated for Sex Reversal in Outdoor Net Enclosures [internet]. [diacu 2010 Juni 15]. Tersedia dari: http://www.nracs.org/publications.
- Hanif S, Yuniati T, Junaedi D. 2006. Teknik Produksi Induk Jantan YY Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar Sukabumi. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Departemen Kelautan dan Perikanan RI.
- Hunter GA and Donaldson EM. 1983. Hormonal Sex Control and Its Aplication to Fishculture. Di dalam: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM, editor. *Fish Physiology*. New York: Academic Press.
- Iskandariah. 1996. Pemanfaatan Testis Sapi dalam Teknik Pengalihan Jenis Kelamin (Seks Reversal) Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.) [skripsi]. Bogor: Universitas Diuanda.
- Kurniasih T. 2004. Produksi Ikan Nila Jantan Homogamet YY (YY Supermale) Untuk Meningkatkan Produksi Nila. WARTA Penelitian Perikanan Indonesia.
- Mantau Z. 2005. Produksi Benih Ikan Nila Jantan dengan Rangsangan Hormon MT dalam Tepung Pelet. *Jurnal Litbang Pertanian* 24.
- Meyer D, Mraco G, Chan W, Castillo C. 2008. Use of Fresh Bull and Hog Testes in Sex Reversal of Nile Tilapia Fry. Aquaculture Collaborative Research Support Program US Agency for International Development (USAID). Honduras.
- Murni AP, Jenny MU. 2001. Pengalihan Jenis Kelamin Ikan Nila GIFT (*Oreochromis niloticus*) dengan Pemberian Hormon Testosteron Alami. Risalah Seminar Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi. BATAN. Jakarta.
- Murni AP. 2005. Efektivitas Hormon Metiltestosteron Terhadap Sex Reversal Ikan dengan Metode Perendaman. Risalah Seminar Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi. BATAN. Jakarta.
- Murni AP. 2009. Kiat Pacu Produksi Penjantanan/ Sex Reversal Ikan dengan Hormon Metiltestosteron Alami. Badan tenaga Nuklir Nasional (BATAN). Jakarta.
- Muslim. 2010. Maskulinisasi Ikan Nila *Oreochromis Niloticus* Dengan Pemberian Tepung Testis Sapi [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana IPB.
- Pandian TJ and Sheela SG. 1995. Hormonal Induction of Sex Reversal in Fish. Aquaculture Research:138: 1-22.
- Papoulias DM, Noltie DB and Tillitt DE. 2000. Effects of Methyl Testosterone Exposure On Sexual Differentiation in Medaka, *Oryzias latipes. Marine Environmental Research* 50: 181-184.

- Phelps RP, Popma TJ. 2000. Sex Reversal of Tilapia. *Tilapia Aquaculture in The America Volume 2*. The World Aquaculture Society. Baton Rounge. Lousiana. USA. P 34-59.
- Piferrer C. 2001. Endocrine Sex Control Strategies for The Feminization of Teleost Fish. Aquaculture Research 197: 229-281.
- Sumantadinata K, Carman O. 1995. Teknologi Ginogenesis dan Seks Reversal dalam Pemuliaan Ikan. Buletin Ilmiah Gukuryoku I: 15-20.
- Soelistyowati DT, Sudrajat AO,Arfah H, Diatin I. 2009. Peningkatan Produksi Ikan Nila Merah, *Oreochromis sp.* dengan Pengembangan Teknik Monoseks Jantan menggunakan Bahan Alami Resin Lebah dan Madu untuk Keamanan Pangan. Hibah Penelitian.
- Triajie H. 2008. Efektivitas Ekstrak Teripang Pasir Yang Telah diformulasikan Terhadap Maskulinisasi Udang Galah [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana IPB.
- Wiryowidagdo S. 2005. Khasiat dan Keamanan Obat Alami (Makalah Seminar). Seminar Obat Alami VS Obat Sintetik: Sudah aman dan efektifkah obat yang kita konsumsi?. Depok: FMIPA, Universitas Indonesia.
- Yamazaki F. 1983. Sex Control Manipulation in Fish. Aquaculture Research 33: 329-354.
- Yuniarti T, Adi Sucipto, Sofi Hanif, D. Junaedi. 2007. Breeding Program Produksi Nila Kelamin Jantan Di Balai Budidaya Air Tawar (BBAT) Sukabumi. Jurnal Penelitian. BBAT Sukabumi
- Zairin M.Jr. 2002. Sex Reversal: Memproduksi Benih Ikan Jantan atau Betina. Jakarta: Penebar Swadaya.